Aus dem Hygienischen Institut der Universität Bonn
Direktor: Prof. Dr. Selter

Über die Methode des Phagocytoseversuches zur Virulenzbestimmung der Staphylokokken und Streptokokken für den Menschen.

Inaugural - Dissertation

zur

Erlangung des Doktorgrades

der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität

zu Bonn.

Vorgelegt am 14. Februar 1939

von

Willibald Schmidt

aus Bonn.

BONN 1939

Druckerei J. Duckwitz, Bonn, Maargasse 4

Gedruckt mit Genehmigung

der medizinischen Fakultät der Universität Bonn.

Referent: Prof. Dr. Selter

Korreferent: Prof. Dr. Grütz

INHALTSÜBERSICHT.

A. Einleitung 5

B. Bisherige Versuche mittelst des Phagocytoseprinzipes . . 6

a) Leishman 6

b) Wright und Douglas 8

c) Bürgers 10

C. Eigene Versuchsanordnung 11

D. Ergebnisse der Phagocytoseversuche von Bürgers, Waldapfel und Wolffheim 16

E. Eigene Beobachtungen 17

F. Brauchbarkeit des Phagocytoseversuches 32

G. Literaturangaben 34

Meinen lieben Eltern!

Über die Methode des Phagocytoseversuches zur Virulenzbestimmung der Staphylokokken und Streptokokken für den Menschen.

A. Einleitung.

Schon lange bemühte man sich um eine brauchbare und sichere Methode zur Virulenzbestimmung der Staphylo- und Streptokokken für den Menschen; entsprach dies doch dem klinischen Bedürfnis, bei bakteriellen Erkrankungen mit diesen Erregern die harmlosen Haut- und Schleimhautparasiten von den pathogenen Formen zu trennen. Alle möglichen Wege wurden zu diesem Zweck beschritten, angefangen von der Untersuchung des morphologischen, färberischen und kulturellen Verhaltens der Bakterien bis zu den komplizierten Ferment- und serodiagnostischen Reaktionen. Hingewiesen sei in diesem Zusammenhang auch auf den Plasmagerinnungsversuch nach v. Daranyi.

Bisher ist jedoch noch immer keine befriedigende Lösung gefunden worden. Die Methoden der Pathogenitätsbestimmungen waren einerseits zu kompliziert, andererseits waren sie insbesondere kein sicherer Gradmesser für die Virulenz beim Menschen.

Auch der Tierversuch konnte hier nicht entscheidend weiterhelfen, denn zahlreiche Untersuchungen von Koch, Petruschky, Lingelsheim, Zangemeister und Bürgers ergaben, daß die Infektiosität des Streptokokkus und Staphylokokkus für Mensch und Tier so verschieden ist, daß praktische, sichere Rückschlüsse hieraus nicht gezogen werden konnten.

Von allen Methoden hat sich eine Fermentreaktion Eingang in die Laboratorien verschafft, die heute noch als die einfachste gilt und deshalb hier erwähnt sei, die Hämolyse.

Marmorek machte 1895 darauf aufmerksam, daß pathogene Strepto- und Staphylokokken das Hämoglobin der roten Blutkörperchen sowohl innerhalb der Gefäßwand wie in vitro freizumachen vermögen. Die Hypothese Frommes, virulente Pyokokken seien stark hämolytisch, avirulente dagegen nicht, wurde zwar durch den Nachweis von stark hämolytischen, aber vollkommen harmlosen Kokken einerseits und von anhämolytischen, hochinfektiösen andererseits,

widerlegt. In der Mehrzahl der Fälle gehen jedoch, wie Marmorek beobachtete, Hämolyse und Pathogenität parallel, und seit Schottmüller die feste Blutplatte erfand, besitzt man ein, wenn auch nicht vollkommenes, so doch sehr einfaches Differenzierungsverfahren, welches eben deswegen in allen bakteriologischen Laboratorien der Welt angewandt wird.

In der folgenden Arbeit habe ich versucht, bei einer Reihe von Staphylo- und Streptokokkenerkrankungsfällen, nach Beschreibung des Wachstums der Erreger auf der Blutplatte und in Bouillon, mit der für meine Zwecke umgestalteten Methode von Bürgers die Virulenz dieser Erreger zu bestimmen, um festzustellen, ob ein Zusammenhang der Phagocytose mit dem klinischen Bild im allgemeinen nachweisbar ist.

B. Bisherige Versuche mittelst des Phagocytoseprinzipes.

a) Leishman.

Das Fundament des Phagocytoseversuchs legte 1902 Leishman, angeregt durch Wrights vergebliche Versuche, ähnlich wie beim Typhus im Serum von Rekonvaleszenten oder Schutzgeimpften bakterizide Antikörper oder Agglutinine gegen Staphylokokken, Pestbazillen und Mikrokokkus melitensis nachzuweisen. Dadurch kam Leishman auf einen anderen und neuen Gedanken. Er ging aus von der Beobachtung Metschnikoffs, daß sowohl im Tierkörper wie im Reagenzglase hochvirulente Bakterien nur wenig, avilurente dagegen stark phagocytiert werden. Diese Beobachtung konnte für viele Bakterien von Löhlein, Gruber, Denys, Marschand, Zade und Kruse oft bestätigt werden. Leishman hat im Jahre 1902 als erster eine einfache Methode angegeben, um die Phagocytose durch menschliche Leukocyten zu beobachten.

Mit einer kleinen Kapillare entnahm er eine abgemessene Menge Fingerblut und mischte dasselbe auf einem Objektträger oder in einem Uhrglase mit der gleichen, in derselben Weise abgemessenen Menge einer Bakterienemulsion. Beide Flüssigkeiten wurden durch mehrmaliges Aufsaugen gründlich vermischt, von dem Gemisch alsdann eine bestimmte Menge, die eben den Raum zwischen Deckglas und Objektträger ausfüllte, auf einen Objektträger geblasen, mit

einem Deckglas bedeckt und eine halbe Stunde bei Körpertemperatur in einer feuchten Kammer gehalten. Dann wurde das Deckglas abgezogen, fixiert und nach einer von Leishman abgegebenen Modifikation der Romanowskyfärbung gefärbt. Die innerhalb der Versuchsdauer eingetretene Phagocytose wurde quantitativ gemessen, indem die in einer Anzahl von polynukleären Leukocyten enthaltenen Bakterien gezählt und daraus der Durchschnittswert für einen Phagocyten berechnet wurde. Gleichzeitig mit dem zu untersuchenden Patientenblut fertigte Leishman stets ein Kontrollpräparat mit seinem eigenen Blut an und bestimmte hier ebenfalls den Durchschnitt der gefressenen Bakterien. Dann stellte er das Verhältnis zwischen den beiden Proben fest, indem er die für das Normalblut gefundene Zahl von der des Patientenblutes subtrahierte. War die Phagocytose im Patientenblut über der Norm, so ergab sich eine positive, war sie darunter, eine negative Zahl. In der Regel zählte Leishman 20 Leukocyten durch und zwar nur polynukleäre. Er fand dabei, daß sich bis zu 50 Kokken in einer Zelle mit Sicherheit zählen ließen. Erhielt er noch größere Zahlen, so wiederholte er den Versuch mit einer dünneren Bakterienemulsion. In der Tat gelang es ihm nach der angegebenen Methode, die Phagocytose von Staphylokokken, Mikrokokkus melitensis, Typhusbazillen und Milzbrand zu beobachten. Genauere Angaben wurden nur über die Staphylokokkenversuche gemacht. Hier war in 2 Fällen eine deutliche Steigerung der Phagocytose nach einer spezifischen Behandlung mit abgetöteten Staphylokokken festzustellen.

Auffallend war dabei die klinische Besserung während der Tage mit hohem Index und das rezidivierende Auftreten von Hautbläschen während der negativen Schwankungen. Ob es sich hierbei um eine Gesetzmäßigkeit handelt, läßt der Autor jedoch dahingestellt. Leishman betrachtete seine Methode keineswegs als ideal, sah er doch insbesondere in der ungleichen Zahl und Virulenz der Bakterien, vielleicht auch in den Schwankungen der phagocytären Kraft des Kontrollblutes immerhin noch wichtige Fehlerquellen. Dennoch blieben die Resultate überraschend regelmäßig. Leishman hat seine Arbeiten hierüber leider nicht fortgesetzt.

b) Wright und Douglas.

Beide haben gemeinsam die Befunde Leishmans theoretisch und praktisch weiter verfolgt. Wright und Douglas modifizierten zunächst die von Leishman angegebene Methode derart, daß eine getrennte Untersuchung des Serums und der Leukocyten ermöglicht wurde. Zu diesem Zweck wurde das Blut durch Zusatz des gleichen Quantums von Na-Zitratlösung (0,5—1% in physiol. NaCl-Lösung) flüssig erhalten, die Blutkörperchen in einer Kapillare zentrifugiert und mehrmals mit NaCl-Lösung gewaschen, um sie von dem anhaftenden Serum zu befreien. Alsdann wurde mit Na-Cl-Lösung auf das ursprüngliche Volumen aufgefüllt. Daß Na-Citrat auch in stärkerer Konzentration die Leukocyten nicht schädigt, wurde durch Kontrollversuche festgestellt. Ferner ließen Wright und Douglas die Phagozytose nicht zwischen Deckglas und Objektträger, sondern in einer Kapillare vor sich gehen. In derselben wurde das zu untersuchende Serum mit dem aus weißen und roten Blutkörperchen bestehenden Bodensatz und der Bakterienemulsion gründlich gemischt, das Röhrchen alsdann zugeschmolzen, ¼ Stunde bei 37° gehalten, dann das Präparat ausgestrichen und nach Leishman gefärbt. Als phagocytic count wird die Zahl der durchschnittlich von einem polynukleären Leukocyten (die mononukleären Zellen bleiben wie bei Leishman ganz außer Betracht) aufgenommenen Bakterien bezeichnet. Als opsonic-index bezeichnen Wright und Douglas diejenige Zahl, die das Verhältnis zwischen dem mit einem pathologischen bzw. verdächtigen und dem mit normalem Serum erhaltenen phagocytic count angibt. Zählt man z. B. in 50 Leukocyten mit dem fraglichen Serum A im ganzen 120 Bakterien, in ebensoviel Zellen mit dem Normalserum B 90 Bakterien, so ist der opsonische Index des Serums A = 120/90 = 1,33. Der opsonische Index, häufig einfach als „Index" eines Serums bezeichnet, ist also eine relative Zahl. Die absolute Zahl der gefressenen Bakterien kann dabei außerordentlich verschieden sein, es hängt das hauptsächlich von der Art und der Menge der zugesetzten Bakterien, von der jeweiligen Beschaffenheit der Leukocyten und von der Zeitdauer des Versuches ab. Bei der Bestimmung des Index sind daher die betreffenden Sera gleichzeitig zu entnehmen und zu bearbeiten, die gleichen Leukocyten und die gleiche Bakterienaufschwemmung zu benutzen, und zwar stets zu

genau gleichen Teilen. Würde man z. B. einmal mehr, das andere Mal weniger Bakterien zusetzen, so käme man zu ganz verschiedenen Zahlen. Natürlich muß auch die Zeitdauer und die Temperatur während des Versuches genau die gleiche sein; ferner sollen die Kapillaren, in denen man die Phagocytose vor sich gehen läßt, wenigstens annähernd gleich sein. Auch müssen Ausstrich, Färbung und Zählung der Präparate in identischer Weise durchgeführt werden. Was die Zahl der auszuzählenden Zellen betrifft, so haben Wright und Douglas bei ihren ersten Arbeiten wie Leishman meist 20—30 Zellen durchgezählt; später hat man vielfach, um genauere Werte zu erhalten, die Zählung von wenigstens 100 Leukocyten gefordert.

Wright und Douglas konnten durch ihre Methode, bei der Leukocyten und Serum getrennt untersucht werden konnten, das Vorhandensein und die Eigenschaften der Opsonine im Serum feststellen. Demnach sind die Opsonine bei etwa 60° thermolabile Substanzen, die durch 10—15 minütiges Erhitzen auf 60—65° völlig oder fast völlig vernichtet werden. Sie spielen eine entscheidende Rolle bei der Phagocytose, indem sie auf die Bakterien derart einwirken, daß sie leichter von den Leukocyten phagocytiert werden können.

Im Verlaufe der Wright'schen Arbeiten wurden die Theorien mehr und mehr ausgebaut, spezialisiert und kompliziert. Es wurden mehr und mehr verschiedenster bakterizider Serumstoffe gefunden, die die Abwehrfähigkeit des Organismus gegenüber Infektionskrankheiten repräsentieren sollten. Wright als Anhänger der Humoralkräfte stand Metschnikoff als Befürworter der zellulären Abwehrkräfte gegenüber.

Sicher liegt auch hier die Wahrheit in der Mitte.

Dieser trugen Dodds, Dudgeon und Shattok, Veitch u. a. Rechnung. Sie empfahlen nämlich, in Anlehnung an die ursprüngliche Methode von Leishman das Zentrifugieren und Waschen der Leukocyten ganz wegzulassen und einfach den „hämophagocytischen Index", d. h. das Freßvermögen der Leukocyten des Patienten in dem eigenen Serum im Vergleich zu einem Kontrollblut zu untersuchen. Hierzu wird das Blut einfach mit den Bakterien (und etwas Citrat) gemischt. Die Autoren sehen einen Vorteil in der Einfachheit des

Verfahrens, sowie darin, daß nicht nur eine Veränderung des Serums, sondern auch eine etwaige der Leukocyten gemessen wird.

c) Bürgers

In einer Arbeit, die Bürgers 1910 über dasselbe Thema herausbrachte, hielt er sich aus den eben dargelegten Gründen an die ältere englische Technik. Zunächst stellte er sich in kleinen Serumröhrchen, welche eine physiologische Na-Citratlösung (nach Sauerbeck 1% Na-Zitrat und 0,63% NaCl) enthielten, eine gleichmäßige Bakterienemulsion her, deren Dichte etwa 200fach verdünnter Naturamilch entsprechen muß.

Dann nahm er eine Wrightsche Kapillare (mit Marke versehen), machte einen kleinen Einstich in seinen Finger, zog zweimal bis zur Marke (eine Luftblase dazwischen geschaltet) Blut an, hierauf einmal bis zur Marke Bakterienemulsion nach, mischte alles gründlich durch mehrmaliges Ausblasen und Aufziehen auf dem Objektträger, zog definitiv auf und legte die Kapillare 10 Minuten in den 37° warmen Brutschrank. Nach 10 Minuten wurde das Gemisch auf dem Objektträger mit dem Wrightschen Reiber ausgestrichen, das Präparat alsdann kurze Zeit in 1%iger Sublimatlösung fixiert und $^1/_2$ Minute mit Carbolthionin (Thionin 0,25%, Karbolwasser 1%) gefärbt. Bürgers zählte nun nicht die Zahl der in jedem Leukocyt liegenden Streptokokken (phagocytic count), sondern bestimmte lediglich die Zahl von 100 Leukocyten, welche nicht gefressen hatten. Diese Zahl nennt er Virulenzzahl. (Die %-Zahl der Leukocyten, die phagocytiert haben, ist die Freßzahl.)

Zur Technik macht Bürgers folgende nähere Bemerkungen: „Die Wrightsche Methode setze ich als bekannt voraus. Das größte Gewicht lege ich auf eine tadellose Bakterienemulsion. Es kommen nun auch Streptokokkenstämme vor, welche von festen Nährböden gewonnen, starke Spontanagglutination zeigen. In diesen Fällen kann man sich durch Anlegen einer Bouillonkultur und nachfolgende Zentrifugierung nicht agglutinierendes Material verschaffen. (Einzelne, aber auch immer avirulente Stämme setzen auch diesem Widerstand entgegen.) Das Mischen des Blutes mit der Emulsion hat sehr sorgfältig unter Vermeidung von Luftblasen zu geschehen. An Stelle des Brutschrankes benutzte ich nachher eine gewärmte dicke Glasplatte,

auf deren Oberfläche eine konstante Temperatur von 37° herrschte, und auf die ich die Kapillare legte. Die Stämme sollen tunlichst in erster Generation geprüft werden, da sie durch Umzüchten rasch an Virulenz einbüßen."

Die Prüfung des Patientenblutes erfolgte sowohl nach der Wright'schen getrennten (Serum und Leukocyten) wie nach der ungetrennten Form. Die Versuche von Bürgers zeigten, daß die Prüfung von ungetrenntem und getrenntem Blut die gleichen Werte ergab. Außerdem wurde auch der absolute Phagocytenindex nach Wright berechnet. Die Prüfung ergab gleichfalls eine Parallelität mit der Virulenzzahl. Der Zusatz von Na-Zitrat übte auf die Resultate keinen nennenswerten Einfluß aus. Außerdem stellte Bürgers fest, daß gegenüber ein und demselben Streptokokkenstamm das Blut verschiedener Personen sich gleich verhält.

C. Eigene Versuchsanordnung.

Zur Prüfung der Freßzahl braucht man:

1. Eine Bakterienemulsion, hergestellt aus der Reinkultur der aus dem Krankheitsherd des Patienten gezüchteten Bakterien.
2. Fingerblut des Patienten.

In meiner Versuchsanordnung hielt ich mich eng an die von Bürgers beschriebene Methode. Die Züchtung der Kokken auf der Blutplatte machte keine Schwierigkeiten. Allerdings war es mir meist nicht möglich, schon nach 12—24 Stunden, wie Bürgers es angibt, die Bakterienemulsion fertigzustellen. Die Herstellung einer Bakterienreinkultur erforderte meist die doppelte Zeit, d. h. es mußte eine Differenzierung auf zwei Blutplatten nach einander vorgenommen werden. Nur wenn ausnahmsweise der Wundabstrich schon eine Reinkultur darstellte, war die entsprechende Bakterienemulsion schon nach 12—24 Stunden fertig.

Bei der technischen Durchführung der Versuche ergaben sich 2 Hauptschwierigkeiten:

a) Die Herstellung einer einwandfreien Bakterienemulsion.

Die Wrightsche Methode, die im Verreiben der Bakterienkultur in einem sterilen Uhrglasschälchen mittelst der Kuppe eines sterilen Reagenzgläschens unter tropfenweisem Zusetzen der Zitratlösung besteht, erwies sich einerseits für Staphylokokken als zu umständlich,

für Streptokokken als unbrauchbar, da dieselben nach meinen Erfahrungen durchweg von festen Nährböden gewonnen mehr oder weniger starke Spontanagglutination zeigten.

Bei den Staphylokokken verfuhr ich daher so, wie es im Bonner Hygienischen Institut zur Herstellung der Staphylokokken-Vaccine üblich ist.

In einem mit 10 Tropfen physiol. Na-Zitratlösung beschickten Serumröhrchen verrieb ich an der benetzten Glaswand 1—2 Ösen der Staphylokokken. Da das Verreiben derselben aber stets sehr sorgfältig zu geschehen hat, empfehle ich, sich mit der rechten Seite zur Lichtquelle (künstliches Licht bzw. Fenster) zu setzen und dabei das Serumröhrchen mit der linken Hand so zu halten, daß es zwischen Beschauer und Lichtquelle liegt. In dieser Stellung kann man den Prozeß des Verreibens im durchfallenden Licht am besten beobachten; auch die feinsten Partikelchen können dabei dem Auge nicht entgehen und werden mit verrieben. Auf diese Weise läßt sich immer eine für die Versuchsdurchführung ideale Emulsion erzielen, die man nachher solange verdünnt, bis die Emulsion der einer 200fach verdünnten Milch gleichkommt. (Diese Standardmilch, die ich pasteuriert mit einem sterilen Gummistopfen gut verschlossen in einem sterilen Serumröhrchen im Eisschrank aufbewahrte, hielt sich während der ganzen Zeit der Versuche gleich gut.) Die Streptokokken konnten wegen zu starker Agglutination nur schlecht nach dieser Methode direkt von der Platte emulgiert werden. Hier war es nötig, erst eine Bouillon anzulegen. Dabei stellte sich heraus, daß hierzu die Traubenzuckerbouillon weniger geeignet war als die gewöhnliche Peptonfleischwasserbouillon, da in ersterer die Streptokokkenkulturen viel stärkere Neigung zu Spontanagglutination zeigten.

Zur Erzielung einer guten Bouillon verrieb ich das von der Blutplatte stammende Material, genau wie bei der Anlage der Staphylokokkenemulsion geschildert, an der benetzten Glaswand des Bouillonröhrchens, kurz oberhalb des Flüssigkeitsspiegels. Hierdurch wurde erreicht, daß die Bouillonkultur einmal viel dichter und ferner viel feiner suspendiert war, als dies bei gewöhnlichem Ausschütteln der Öse in der Bouillon der Fall war, da ja das Ausgangsmaterial bereits in fein suspendierter Form in die Bouillon gelangte. Bevor

dann die Bouillon zum Zentrifugieren in ein kleines Serumröhrchen umgefüllt wurde, schüttelte ich dieselbe erst kräftig hin und her, um eine recht gute und regelmäßige Suspension zu erhalten. Nach dem Zentrifugieren und Abgießen (dabei ist darauf zu achten, daß auch möglichst der letzte Tropfen mit Hilfe von Löschpapier etc. abgesaugt wird) schwemmte ich den Bodensatz unter tropfenweisem Zusatz der Zitratlösung und dauerndem Schütteln auf. Durch ganz leichtes Zentrifugieren wurden nunmehr die groben Partikelchen zu Boden geschlagen, dann mittelst einer Wrigthschen Kapillare und eines Saugbällchens die einwandfreie Emulsion abgesaugt und in ein zweites kleines Serumröhrchen gefüllt. Es ist unbedingt erforderlich, daß das Absaugen direkt an der Zentrifuge nach vorsichtiger Herausnahme des Zentrifugenröhrchens (ohne Zittern und Schütteln!) geschieht, da die geringste Erschütterung bereits genügt, um die am Boden ruhenden gröberen Partikelchen wieder mit der übrigen Emulsion zu vermischen.

Ein Stamm ließ sich auch auf diese Weise nicht emulgieren und mußte daher für die Untersuchung ausfallen.

Nach Fertigstellung der Emulsion mußte dieselbe mit dem Fingerblut des Patienten in der Wrightschen Kapillare gemischt werden und zwar zwei Teile Blut mit einem Teil Emulsion. Zu diesem Zweck zeichnete ich mir mit Tusche auf die Kapillaren im Abstand von 3,6 und 9 cm vom Kapillarenende an kleine Striche. Bis 6 cm wurde Blut, dann nach Zwischenschaltung einer kleinen Luftblase nochmals bis 3 cm Emulsion aufgezogen. Die Marke von 9 cm diente nur zur Kontrolle. Nach Wright geschah das Aufziehen mittelst eines kleinen Gummibällchens. Da dies aber zu Ungenauigkeiten führte, zog ich die Flüssigkeiten ähnlich wie bei der Bedienung der Leukocytenmischpipette mit einem kleinen Gummisauger auf. Nach dem Mischen wurde die Flüssigkeit bis kurz unter die Erweiterung der Wrightschen Kapillare so weit aufgezogen, daß dieselben ohne Gefahr für den Inhalt am unteren Ende zugeschmolzen werden konnte. (Das Zuschmelzen geschah über einer kleinen Alkoholflamme, da dieselbe geruch- und ruß frei brennt und so die Patienten nicht belästigt.)

b) Das 10-minütige Bebrüten des Emulsion-Gemisches in der Wrightschen Kapillare.

Da ich meist an Krankenbetten in den verschiedensten Kliniken, in denen z. T. kein Brutschrank existierte, zu arbeiten hatte, galt es, einen Ersatz hierfür zu finden.

Die von Bürgers angegebene Glasplatte ließ sich nicht verwenden, da die Bedingung, ihre Oberfläche konstant auf 37° C zu halten, mit einfachen Mitteln nicht erfüllt werden konnte. Ich benutzte daher eine gewöhnliche Thermosflasche, in die die Wrihgtsche Kapillare hineinpaßte. Für die Versuche wurde die Flasche mit 39° warmem Wasser gefüllt. Wie durch eine Reihe von Versuchen festgestellt, kühlte sich dieses nach einigen Minuten auf 37½° ab und hielt sich dann für etwa zwei Stunden konstant auf der Temperatur. Bevor nun die Wrightsche Kapillare mit Inhalt zum kurzen Bebrüten in das Wasser gestellt wurde, mußte sie hermetisch abgeschlossen werden, damit der Inhalt nicht mit dem Wasser in Berührung kommen und geschädigt werden konnte. Das untere Ende der Kapillare wurde nach Vorschrift zugeschmolzen. Das obere Ende, welches sich zu einem Mundstück erweiterte, konnte dagegen nicht einfach auch zugeschmolzen werden. Ich verschloß es daher bei den ersten Versuchen mit Plastilin. Da dies jedoch keine ideale Lösung war, gestaltete ich die Wrightsche Kapillare derart um, daß auch das obere Ende zugeschmolzen werden konnte. Abb. 1 zeigt das ursprüngliche Modell I der Wrightschen Kapillare und das für die Thermosflasche umgestaltete II in natürlicher Größe.

Bei der so neugeformten Kapillare geht die erste Erweiterung A wieder in eine Kapillare über, die nach einer triangelförmigen Kurve in dem Mundstück B endet, welches aus Gründen der Handlichkeit in der Achsenrichtung der ganzen Kapillare liegt. Nach dem Aufziehen des Flüssigkeitsgemisches wird die Kapillare erst bei P1 zugeschmolzen, dann wird im Schenkel a die Kapillare durchgebrochen und das sich so ergebende obere Ende ebenfalls zugeschmolzen. Um bei gleichzeitiger Bebrütung mehrerer Kapillaren eine Unterscheidung derselben zu ermöglichen (mehr als 4 Kapillaren gleichzeitig kamen praktisch nicht vor), brach ich bei der ersten Kapillare den Schenkel a länger, bei der zweiten kürzer ab.- Bei der 3. und 4. Kapillare hielt ich das abgebrochene und bei P2 zugeschmolzene

Ende in die Flamme, sodaß sich dasselbe, der Schwerkraft folgend, je nach Haltung der Kapillare nach seitlich, oben oder unten umbog. Nunmehr kann die Kapillare in die Thermosflasche eingeführt werden. Bei dieser Versuchsführung erfolgt durch die Umspülung der ganzen Kapillare mit dem 37° warmen Wasser eine durch die große Wärmekapazität des Wassers bedingte ideal schnelle und gleichmäßige Durchwärmung des Kapillarinhaltes. Nach dem zehnminütigen Belassen in der Thermosflasche wird die Kapillare erst abgetrocknet und dann bei P3 durchgesägt. Nun wird nach Anlegen des Gummiröhrchens und Abbrechen des unteren Kapillarenendes das Gemisch nach Vorschrift auf einen Objektträger ausgeblasen, gemischt und der Ausstrich gemacht. Wright und auch Bürgers haben diesen mit einem speziell von Wright angegebenen Ausstrichkeil, dem sogenannten Spreader, gemacht. Es hatte dies zunächst den Vorteil, daß die Leukocyten alle an das eine Ende des Objektträgers geschoben wurden und nachher leichter augezählt werden konnten. Da diese Technik jedoch wieder eine besondere Übung voraussetzte, wurde hier der Ausstrich ganz wie ein einfacher Blutausstrich vorgenommen. Von zwei ganz neuen, gut in Alkohol entfetteten Objektträgern benutzte ich erst den einen als Ausstrichkeil; auf den anderen brachte ich im rechten Drittel einen kleinen Tropfen des Gemischs, den ich nach links hin ausstrich. Nun fertigte ich noch einen Ausstrich an, indem ich die Rolle der beiden Objektträger vertauschte. Die Hauptmenge der Leukocyten war hierbei jedesmal auf dem rechten Ende der Ausstriche zu finden. Die Zählung auf dem Kreuztisch ging auch so sehr flott vonstatten. Die Färbung des Ausstriches nahm ich nach dreiminütiger Fixierung durch Methylalkohol mit Löfflerschem Methylenblau vor (Färbung 3—5 Minuten). Beide Reagenzien sind nämlich in jedem Laboratorium gebrauchsfertig vorhanden, und es lassen sich hiermit ebenso gute Färbepräparate erzielen wie mit den von Bürgers angegebenen.

Bei dieserVersuchsanordnung konnte ich u. a. bei nicht weit entfernt liegenden Kliniken, in denen ich Versuche durchzuführen hatte, noch während die zu bebrütenden Kapillaren in meiner Thermosflasche lagen, schon zur nächsten Klinik gehen, dort meine Ausstriche vornehmen, die folgenden Kapillaren fertigmachen und während des Bebrütens mit der Thermosflasche wieder weitergehen.

D. Ergebnisse der Phagocytoseversuche von Bürgers, Waldapfel und Wolffheim.

Bürgers hat 1910 Untersuchungen über Streptokokken an geeigneten Fällen der Königsberger Frauenklinik angestellt. Er kam zu dem Ergebnis, daß Freßzahlen unter 50 einen virulenten Streptokokkenstamm anzeigen. Über dieses Problem sind zunächst keine Arbeiten mehr erschienen bis 1923, als Waldapfel zur Klärung der Frage der Ätiologie der Angina sich erneut dieser Untersuchungsmethode zuwandte. Er konnte bei einer Reihe von Anginafällen beobachten, daß die Phagocytose bei zunehmender Genesung (Temperaturabfall) mit den Anginastreptokokken + Patientenblut geprüft, zunahm, während sie, mit denselben Streptokokken und Normalblut angesetzt, annähernd dasselbe sich gleichbleibende Verhalten — eine konstante Kurve zeigte (siehe Abbildung 2).

Waldapfel hat dann ferner noch fremde (unspezifische) Streptokokkenstämme zum Vergleich herangezogen und hat auch hier in der Regel ein deutliches Abweichen der Phagocytose gefunden: Steigerung bei den spezifischen, keine Beeinflussung bei den fremden Stämmen.

Angeregt durch die Arbeit Waldapfels beschäftigten sich Bürgers und Wolffheim mit demselben Problem und brachten 1931 eine neue Arbeit heraus. In ihren Untersuchungsergebnissen bestätigten sie diejenigen Waldapfels:

„Bei fortlaufender Prüfung während der Krankheitstage finden wir einen Anstieg der Phagocytosekurve parallel dem Heilungsverlauf und dem Abfall des Fiebers (Zunahme der Opsonine) wie bei Waldapfel."

Bei chronischen Tonsillitiden ist der Einfluß der kausalen Therapie (Tonsillektomie) auf die spezifische Abwehrreaktion der Phagocytose studiert worden.

Als praktisches Ergebnis ihrer Untersuchungen geben die beiden Autoren folgendes an:

„Der Phagocytoseversuch kann im Verein mit der Gesamtbetrachtung des Einzelfalles als wichtige objektive Methode zur Stützung der Diagnose „Tonsillitis chronica" und als Zeichen dafür verwandt werden, daß eine Organerkrankung mit dem Tonsillenherd in ursächlichem Zusammenhang steht und damit die absolute Indikation zur Tonsillektomie gegeben ist, wenn nämlich die Freßzahlen

tief, d. h. wesentlich unter 50 liegen. (Daniederliegen der Abwehrkräfte, Mangel an Opsoninen).

Einige Wochen nach der Operation finden wir dann gewöhnlich in diesen Fällen einen Anstieg der Freßzahlen.

Liegen dagegen die Freßzahlen um 50, so kann man im allgemeinen annehmen, daß entweder ein Zusammenhang zwischen Herd- und Organerkrankung nicht besteht, oder daß der Opsoningehalt ausreicht, um der Infektion Herr zu werden. Dieselben Verhältnisse liegen vor, wenn sich der Prozeß rein lokal abspielt. Von einer Operation wird man in so gelagerten Fällen absehen können, jedoch ist eine dauernde Beobachtung erforderlich, da sich die Verhältnisse jeden Augenblick ändern können. Bei gesunden Mandeln liegen die Freßzahlen gewöhnlich noch höher." Bürgers und Wolffheim geben bei Tonsillitis chronica (vor und nach Tonsillektomie geprüft) zwei Hauptreaktionstypen an:

1. Meistens einen Tiefstand der Freßzahl vor und ein Ansteigen nach der Operation.
2. Einen Hochstand vor und ein Rückgang nach der Operation, dies besonders bei hochfieberhaften Zuständen (Sepsis, akute Bronchitis).

Diese beiden Reaktionstypen machen aber die Methode des Phagocytoseversuches als Stütze einer Diagnose sehr problematisch, wenn nicht illusorisch, denn wenn bei irgend einem Fall prinzipiell zwei entgegengesetzte Reaktionstypen auftreten können, die beide diagnostisch und prognostisch das gleiche bedeuten, so ist eine einwandfreie Beurteilung nicht möglich.

E. Eigene Beobachtungen.

Zweck meiner Arbeit war es festzustellen, ob die Phagocytose mit dem klinischen Bild übereinstimmt oder nicht. Ich zog dazu eine Anzahl von Staphylokokken- und Streptokokkenerkrankungen heran, die mir an den verschiedenen Universitätskliniken und dem Marienhospital in Bonn zur Verfügung standen. In folgendem sind sie in Tabellenform aufgeführt:

1. Frau M. B. (Ohrenklinik) Angina follicularis.
   Tonsillenabstrich am 30. 11. 38.

Befund: Streptokokken, trockene Kolonien mit starkem hämolyt. Hof und wallartigen Rändern.
Freßzahl am 2. 12. 38 = 80.

2. Frl. M. K. (Ohrenklinik) Angina follicularis.
Therapie: Eisbeutel, Eiskravatte, cal. chloric.
Tonsillenabstrich am 30. 11. 38.
Befund: Streptokokken, stark hämolysierend, trokkene Kolonien, Rauform mit wallartigem Rand. Im hängenden Tropfen mittlere lange Kettenkugeln.
Freßzahlen am: 2. 12. 38 = 79
4. 12. 38 = 68
12. 12. 38 = 71
13. 12. 38 = 75
Temperaturkurve siehe Abb. 3.

3. Frau G. H. (Ohrenklinik) Tonsillitis chronica.
Therapie: Tonsillektomie.
Tonsillektomierte Tonsillen in Traubenzuckerbouillon am 1. 12. 38.
Befund: Staphylokokken, gelbe Kolonien mit starker Hämolyse.
Freßzahlen am: 3. 12. 38 = 73
4. 12. 38 = 92
8. 12. 38 = 85
9. 12. 38 = 77
Kein Fieber. Am 10. 12. 38 entlassen.

4. Frl. Chr. M. (Ohrenklinik), Angina simplex.
Therapie: Schwitzpackung, cal. chloric.
Tonsillarabstrich am 6. 12. 38.
Befund:
a) Streptokokken, kleine, glasige Kolonien mit großem hämolyt. Hof. Im hängenden Tropfen mittlere und lange Ketten.
b) Staphylokokken, weißgelbliche Kolonien mit stärkerer Hämolyse.
c) Staphylokokken, dunkler aussehende Kolonien ohne Hämolyse.

d) Vergrünende Keime. Im hängenden Tropfen kurze und mittlere Ketten.

Freßzahlen am 9. 12. 38:

Hämolyt. Streptokokken	= 72
Hämolyt. Staphylokokken	= 98
Anhämolyt. Staphylokokken	= 70
Vergrünende Keime	= 63

Am 10. 12. 38:

Hämolyt. Streptokokken	= 74
Hämolyt. Staphylokokken	= 95
Anhämolyt. Staphylokokken	= 67
Vergrünende Keime	= 61

Temperaturkurve siehe Abb. 4.

Am 13. 12. 38 entlassen.

5. Kind E. K. (Ohrenklinik), Angina follicularis.

Therapie: Eiskravatte, cal. chloric., Schwitzpackung.

Tonsillarabstrich am 6. 12. 38.

Befund:

a) Streptokokken, ganz kleine, glasige Kolonien mit großem hämolyt. Hof. Im hängenden Tropfen kurze und mittlere Ketten.

b) Staphylokokken, weißliche Kolonien ohne Hämolyse (die Emulgierung dieser Staphylokokken ist auch in Bouillonkultur unmöglich, da Agglutination zu stark).

c) Vergrünende Keime. Im hängenden Tropfen kurze und mittlere Ketten.

Freßzahlen:

Am 9. 12. 38:	Hämolyt. Streptokokken	= 74
	Vergründende Keime	= 58
am 10. 12. 38:	Hämolyt. Streptokokken	= 79
	Vergrünende Keime	= 56
am 16. 12. 38:	Hämolyt. Streptokokken	= 71
	Vergrünende Keime	= 53

Temperaturkurve siehe Abb. 5.

Am 22. 12. 38 entlassen.

6. Herr St. (Ohrenklinik), Chronische Tonsillitis.
Tonsillenabstrich am 9. 12. 38.
Befund:
a) Staphylokokken, weiße Kolonien mit kleinem und schwachem hämolyt. Hof.
b) Vergrünende Keime. Im hängenden Tropfen sehr lange, geschlungen liegende Ketten.
Freßzahlen:

Am 12. 12. 38:	Staphylokokken	= 69
	Vergrünende Keime	= 54
am 15. 12. 38:	Staphylokokken	= 67
	Vergrünende Keime	= 61
am 23. 12. 38:	Staphylokokken	= 62
	Vergrünende Keime	= 48
am 31. 12. 38:	Staphylokokken	= 89
	Vergrünende Keime	= 39

Kein Fieber.

7. Herr P. St. (Chirurg. Klinik), Osteomyelitis.
Klinisch: Chronische sequestrierende Osteomyelitis des rechten Unterschenkels.
Wundabstrich am 2. 12. 38.
Befund: Staphylokokken, gelbe Kolonien mit starker Hämolyse.
Freßzahlen am: 3. 12. 38 = 100
4. 12. 38 = 100
12. 12. 38 = 94
13. 12. 38 = 98
Temperaturkurve: Siehe Abb. 6.

8. Frau A. M. (Chirurg. Klinik), Osteomyelitis.
Klinisch: Alte Osteomyelitis am linken Unterschenkel. Frisches Rezidiv.
Therapie: Operation am 2. 12. 38. Subperiostaler Abszeß mit Kloaken.
Wundabstrich am 5. 12. 38.
Befund:
a) Streptokokken, trockene, stecknadelkopfgroße

Kolonien mit großem hämolyt. Hof. Im hängenden Tropfen mittlere und lange Ketten.

b) Staphylokokken, weißliche anhämolytische Kolonien.

Freßzahlen:

Am 6. 12. 38:	Staphylokokken	= 80
am 7. 12. 38:	Staphylokokken	= 84
	Streptokokken	= 65
am 12. 12. 38:	Staphylokokken	= 76
	Streptokokken	= 52
am 13. 12. 38:	Staphylokokken	= 79
	Streptokokken	= 67
am 20. 12. 38:	Staphylokokken	= 63
	Streptokokken	= 57
am 23. 12. 38:	Staphylokokken	= 69
	Streptokokken	= 46
am 28. 12. 38:	Staphylokokken	= 54
	Streptokokken	= 63
am 31. 12. 38:	Staphylokokken	= 81
	Streptokokken	= 49

Temperaturkurve: Siehe Abb. 7.

9. Herr A. P. (Chirurg. Klink), Osteomyelitis.
Klinisch: Rezidive bei chronischer Osteomyelitis am rechten Unterschenkel und am linken Oberarm.
Therapie: Feuchte Umschläge.
Wundabstrich am 5. 12. 38.
Befund: Staphylokokken, große, gelbe Kolonien mit starker Hämolyse.
Freßzahlen am: 6. 12. 38 = 90
7. 12. 38 = 88
10. 12. 38 = 86
11. 12. 38 = 91
16. 12. 38 = 98
23. 12. 38 = 87
28. 12. 38 = 95
31. 12. 38 = 97
Temperaturkurve: Siehe Abb. 8.

10. Kind M. L. (Marienkrankenhaus), Osteomyelitis.
Klinisch: Frische Osteomylitis am linken Unterschenkel. Über dem oberen Drittel der linken Tibia Abszeßbildung mit praller Spannung der Haut, Rötung, hohes Fieber. Kind sieht blaß und schlecht aus.
Therapie: Am 18. 11. 38, etwa 8 cm unterhalb Patella, Freilegung der Tibia und Spaltung des Periostes. Kirschgroßer Herd, in dem sich eitrig-sanguinolente Flüssigkeit befindet, wird bis weit ins Gesunde entfernt, d. h. mit scharfem Löffel ausgekratzt. Im Anschluß daran Kniegelenkspunktion und Spülung mit Rivanol-Klumsky-lösung.
Wundabstrich am 16. 12. 38.
Befund:
a) Streptokokken, kleine, weißliche Kolonien mit großem hämolyt. Hof. Im hängenden Tropfen kurze und mittellange Ketten.
b) Staphylokokken, weiße Kolonien mit kleinem, schwach hämolyt. Hof.
Freßzahlen:

Am 19. 12. 38:	Staphylokokken	= 96
	Streptokokken	= 38
am 27. 12. 38:	Staphylokokken	= 91
	Streptokokken	= 42
am 29. 12. 38:	Staphylokokken	= 94
	Streptokokken	= 29

Temperaturkurve (Rektal gemessen): Siehe Abb. 9.

11. Frau L. (Frauenklinik), Eiterpusteln.
Klinisch: Am Körper ein makolöser und papulöser Ausschlag. Es entstanden daraus z. T. Blasen, die an den Beinen besonders groß waren, platzten und nachher vereiterten oder mit Borken bedeckt waren.
Abstrich am 7. 12. 38.
Befund:
a) Streptokokken, stecknadelkopfgroße, weißliche Kolonien mit starkem hämolyt. Hof. Im hängenden Tropfen mittlere Ketten.

b) Staphylokokken, größere gelbe Kolonien mit hämolyt. Hof.

Freßzahlen:

Am 9. 12. 38: Streptokokken = 69
Staphylokokken = 96
am 11. 12. 38: Streptokokken = 71
Staphylokokken = 95

Kein Fieber.

Am 13. 12. 38 entlassen.

12. Frau M. B. (Frauenklinik). Leichte Mastitis.

Therapie:: Feuchte Umschläge mit Alkohol.

Abstrich am 10. 12. 38 von der Brustwarze (Eiter).

Befund: Staphylokokken. Kleine, gelbe Kolonien mit schwacher Hämolyse.

Freßzahlen am: 12. 12. 38 = 84
15. 12. 38 = 73

Kein Fieber.

Am 16. 12. 38 entlassen.

13. Herr T. (Chirurg. Klinik). Bursitis präpatellaris.

Klinisch: Rötung und Schwellung sowie Druckschmerz.

Therapie: Am 5. 12. 38 Incision, Entleerung von wenig Eiter, darauf Rückgang des Infiltrates.

Wundabstrich am 11. 12. 38.

Befund: Staphylokokken, kleine, gelbe Kolonien mit stark hämolyt. Hof.

Freßzahlen am: 12. 12. 38 = 95
13. 12. 38 = 87
15. 12. 38 = 92

Kein Fieber.

Am 14. 12. 38 entlassen.

14. Herr D. Marienkrankenhaus) Eiternde Blinddarm-Operationswunde.

Klinisch: Am 25. 11. 38 Appendektomie, nachher Ausbildung eines Infiltrates und Abszesses im Douglas. Abszeß kommuniziert mit Außenwelt. Eiter aus Operationswunde. Jedesmal, wenn sich Eiter entleert hat, fällt das Fieber.

Therapie: Wärme auf Leib und Einläufe.
Wundabstrich am 15. 12. 38.
Befund: Staphylokokken, schwach gelbliche, leicht hämolyt. Kolonien.
Freßzahlen am: 17. 12. 38 = 82
19. 12. 38 = 90
27. 12. 38 = 97
29. 12. 38 = 88
30. 12. 38 = 95
Kein Fieber.

15. Herr H. (Chirurg. Klinik) Vereiterte Amputationswunde.
Klinisch: Wegen Krebswucherung wurde am 25. 11. 38 Amputation der rechten Zehe vorgenommen. Ab 27. 11. 38 starke Schmerzen an Amputationsstelle, Schwellung und Rötung des Fußes und Fieber. Am 29. 11. 38 Amputationsstelle mit schmierig-eitrigem Gewebe bedeckt, unscharfe Rötung der angrenzenden Bezirke, Schwellung des Fußes, Fieber.
Therapie: Am 14. 12. 38 operative Incison in Eiterherd.
Wundabstrich am 16. 12. 38.
Befund: a) Streptokokken, helle ‚glasige, für Streptokokkenart große Kolonien mit großem hämolyt. Hof.
b) Staphylokoken, gelbe Kolonien mit kleinem hämolyt. Hof.
Freßzahlen:

Am 17. 12. 38	Staphylokokken	= 100
am 19. 12. 38	Staphylokokken	= 94
	Streptokokken	= 41
am 23. 12. 38	Staphylokokken	= 92
	Streptokokken	= 35
am 28. 12. 38	Staphylokokken	= 97
	Streptokokken	= 39
am 31. 12. 38	Staphylokokken	= 85
	Streptokokken	= 33

Temperaturkurve: Siehe Abb. 10.

16. Herr M. H. (Chirurg. Klinik) Abszeß in linker Axelhöhle.
Klinisch: An linker hinterer Axillarlinie kleinkindskopfgroße, derbe Vorwölbung.

Therapie: Am 11. 11. 38 Incision und Drainage, Entleerung von reichlich dickflüssigem Eiter, nachher Abklingen der Infiltration. Bis zum 5. 12. 38 noch ziemlich starke Sekretion.
Wundabstrich am 5. 12. 38.
Befund: Staphylokokken, gelbe Kolonien mit starker Hämolyse.
Freßzahlen am: 6. 12. 38 = 100
7. 12. 38 = 88
11. 12. 38 = 91
12. 12. 38 = 96
Kein Fieber.
Am 13. 12. 38 entlassen.

17. Frau J. H. (Chirurg. Klinik) Karbunkel am rechten Oberschenkel.
Klinisch: 87 Jahre alte Patientin hat in den letzten Jahren oft mit Furunkeln zu tun.
Therapie: Am 8. 12. 38 Aufschneiden des Abszesses und Austamponieren. Zinksalbenverbände und Umschläge mit essigsaurer Tonerde.
Wundabstrich am 8. 12. 38.
Befund: Staphylokokken, weißlich aussehende Kolonen mit starkem hämolyt. Hof.
Freßzahlen am: 9. 12. 38 = 78
10. 12. 38 = 81
13. 12. 38 = 75
Kein Fieber.
Am 14. 12. 38 entlassen.

18. Herr G. (Marienkrankenhaus) Nackenkarbunkel.
Therapie: Am 16. 12. 38 große Incision und Tamponadeverband.
Wundabstrich am 19. 12. 38.
Befund: Staphylokokken, goldgelbe, mit kleinem aber stark hämolyt. Hof umgebene Kolonien.
Freßzahlen am: 20. 12. 38 = 94
22. 12. 38 = 97
23. 12. 38 = 88

Temperaturkurve: Siehe Abb. 11.
Am 24. 12. 38 entlassen.

19. Herr D. (Marienkrankenhaus) Paramandibulärer Abszeß.
Therapie: Ichthyolsalbe, am 19. 12. 38 Incision, Entleerung von reichlich dickrahmigem Eiter, feuchter Verband und Wärme.
Wundabstrich am 19. 12. 38.
Befund: Streptokokken, kleine, glasige Kolonien mit stark hämolyt. Hof.
Freßzahlen am: 21. 12. 38 = 56
24. 12. 38 = 48
27. 12. 38 = 36
30. 12. 38 = 39
Temperaturkurve: (Rektal gemessen) siehe Abb. 12.

20. Herr S. (Marienkrankenhaus) Phlegmone am linken Fuß.
Klinisch: Am 14. 12. 38 linker Fuß ödematös geschwollen und gerötet. Dellenbildung. An der 3. Zehe erbsengroße Wunde, von der die Entzündung ausgeht.
Therapie: Ichthyol- und Alkoholverband, am 19. 12. 38 Fluktuation. Dorsale Incision mit Spreizung der Wunde. Es entleert sich reichlich Eiter. Feuchter Verband. Später Fortschreiten der Infiltration in die Tiefe und Entstehung von Osteomyelitis der Fußwurzelknochen.
Wundabstrich am 19. 12. 38.
Befund: Staphylokokken, kleine, weißliche Kolonien mit starkem hämolyt. Hof.
Freßzahlen am: 20. 12. 38 = 98
21. 12. 38 = 96
24. 12. 38 = 89
27. 12. 38 = 100
29. 12. 38 = 99
Temperaturkurve (rektal gemessen): Siehe Abb. 13.

21. Kind M. (Marienkrankenhaus) Abszeß der Leistendrüsen rechts.
Klinisch: Von kleinem Pickelchen an rechtem Oberschenkel ausgehend Lymphangitis und Adenitis der Inguinaldrüsen,

Rötung und Infiltration der Inguinalgegend. Nach Ichthyol und Wärme Fluktuation; deshalb am 14. 12. 38 Incision und Entleerung von reichlich Eiter.
Wundabstrich am 19. 12. 38.
Befund: a) Streptokokken, sehr kleine, glasige Kolonien mit schwach hämolytischem, kleinem Hof.
b) Staphylokokken, gelbe Kolonien mit stark hämolyt. Hof.
Freßzahlen:

Am 20. 12. 38	Staphylokokken	= 97
am 21. 12. 38	Streptokokken	= 12
	Staphylokokken	= 85
am 24. 12. 38	Streptokokken	= 21
	Staphylokokken	= 89
am 27. 12. 38	Streptokokken	= 27
	Staphylokokken	= 91

Temperaturkurven (rektal gemessen): Siehe Abb. 14.

Auswertung der Tabellen.

Bei den ersten 6 Fällen handelte es sich um Tonsillitiden, 3 und 6 chronischer, die übrigen 4 akuter Natur; alle verliefen ohne Komplikationen. Bei den akuten Fällen waren als Erzeuger hämolyt. Streptokokken festzustellen mit Freßzahlen von 68 bis 80.

Die beiden chronischen Tonsillitiden (3 und 6) wiesen als Erreger hämolyt. Staphylokokken auf, hämolyt. Streptokokken fehlen dabei zufällig. Die Freßzahlen schwankten hier zwischen 62 und 92. Aus der Höhe der Freßzahlen war nichts besonderes zu schließen; dieselben stimmten mit der klinischen Gutartigkeit (komplikationsloser Verlauf) überein.

Bei Fall 4—6 habe ich sämtliche auf der Blutplatte angegangenen Keime der Phagocytose unterworfen.

Es lagen vor:

Bei 4: Hämolyt. Streptokokken — Freßzahlen 72 und 74
Hämolyt. Staphylokokken — Freßzahlen 98 und 95
Bei 5: Hämolyt. Streptokokken —— Freßzahlen 74, 79 und 71
Vergrünende Keime — Freßzahlen 58, 56 und 53

Bei 6: Hämolyt. Staphylokokken — Freßzahlen 69, 67, 62 u. 89
Vergrünende Keime — Freßzahlen 54, 61, 48 und 39.

Wie diese kurze Aufstellung zeigt, entsprechen den verschiedenen Erregern auch verschiedene Höhen der Freßzahlen. Hieraus kann man u. a. auch schließen, daß jeder Bazillus eine eigene Affinität zu den Leukocyten hat. Wenn dem so ist, so kann man die Freßzahlen für verschiedene Bakterienarten nicht miteinander vergleichen und, von ihnen als Maßstab der Virulenz ausgehend, etwa sagen, daß z. B. dieser Streptokokkenstamm virulenter sei als jener Koli-Stamm. Die weiteren Fälle waren einesteils Osteomyelitiden, anderenteils Abszesse, Phlegmonen, Furunkel und andere leichtere Staphylokokken und Streptokokkenerkrankungen.

Da, wie schon erwähnt, für jeden Bazillus eine spezielle Affinität zu den Leukocyten zu bestehen scheint, soll im folgenden die Betrachtung der Staphylokokkenerkrankungen getrennt von den Streptokokkenerkrankungen und den Mischinfektionen erfolgen und anschließend diese Formen miteinander verglichen werden.

a) Staphylokokkenerkrankungen:

Fall 3. Patient fieberfrei. Die Freßzahlen bewegten sich zwischen 73 und 92.

Fall 6. Tonsillenabstrich. Patient fieberfrei. Freßzahlen zwischen 62 und 89.

Fall 7. Chronische Osteomyelitis recidiv. Freßzahlen zwischen 98 und 100, praktisch fieberfrei.

Fall 9. Recidiv von chronischer Osteomyelitis. Dauernde subfebrile Temperaturen. Freßzahlen zwischen 88 und 98.

Fall 12. Leichte Mastitis, geht schon auf feuchte Umschläge hin zurück.
Kein Fieber.
Freßzahlen zwischen 73 und 84.

Fall 13. Bursitis präpatellaris.
Nach kleiner Incision schnelle Abheilung. Kein Fieber.
Freßzahlen zwischen 87 und 95.

Fall 14. Eiternde Operationswunde in Abheilung begriffen.
Kein Fieber.
Freßzahlen zwischen 82 und 97.

Fall 16. In Abheilung begriffener Abszeß in linker Axelhöhle.
Kein Fieber.
Freßzahlen zwischen 88 und 100.

Fall 17. Karbunkel am rechten Oberschenkel. 87jähriger Patient.
Kein Fieber.
Freßzahlen zwischen 75 und 81.

Fall 18. Nackenkarbunkel.
Fieber bis 39°, fiel sofort nach Incision.
Freßzahlen zwischen 88 und 97.

Fall 20. Phlegmone am linken Fuß.
Remittierendes Fieber bis 39,5°. Trotz Incision und öfterer Drainage schreitet Prozeß unaufhaltsam auf Knochen fort.
Freßzahlen zwischen 89 und 100.

Bei allen diesen Staphylokokkenerkrankungen sind die Freßzahlen sehr hohe. Unterschiede hierin bestehen kaum, obwohl der klinische Verlauf doch zum Teil sehr verschieden ist. Fall Nr. 3, 6, 12 und 13 sind z. B. klinisch harmloser Art, während Fall 20, wie ich später erfuhr, mit einer lätalen Sepsis endete. Auch Fall 9 war wegen der an zwei verschiedenen Stellen vorhandenen Osteomyelitis klinisch nicht günstig. Der Patient siecht langsam dahin. Aus den Freßzahlen ließ sich also nichts über die klinische Prognose bzw. die Virulenz der Erreger ersehen.

b) Streptokokkenerkrankungen.

Fall 1. Angina follicularis. Durch Behandlung war das Fieber schon abgeklungen.
Freßzahl = 80.

Fall 2. Angina follicularis
gebessert, noch subfebrile Temperaturen.
Freßzahlen zwischen 68 und 79.

Fall 5. Angina follicularis.
Durch Behandlung kein Fieber mehr.
Freßzahlen zwischen 71 und 79.

Fall 19. Paramandibulärer Abszeß.
Nach Incision kein Fieber mehr.
Freßzahlen zwischen 36 und 56.

Obwohl dies alles klinisch verhältnismäßig harmlose Erkran-

kungen waren, bestand trotzdem ein erheblicher Unterschied in den Freßzahlen; auch hier ist also keine Parallelität zwischen klinischem Verlauf und Phagocytoseversuch vorhanden.

c) Mischinfektionen.

Fall 4. Angina simplex.
Durch Behandlung war Fieber schon abgeklungen.
Freßzahlen:
Hämolyt. Steptokokken von 72—74
hämolyt. Staphylokokken von 95—98

Fall 8. Recidiv von chronischer Osteomyelitis. Subfebrile Temperaturen und fieberfreie Zeiten.
Freßzahlen:
Hämolyt. Streptokokken von 46—67
hämolyt. Staphlokokken von 54—84

Fall 10. Frische Osteomyelitis, die in chronische Kniegelenkseiterung übergegangen ist.
Intermittierendes Fieber bis 39,5°.
Freßzahlen:
Hämolyt. Streptokokken von 29—42
hämolyt. Staphylokokken von 91—96

Fall 11. Eiterpusteln.
Kein Fieber.
Freßzahlen:
Hämolyt. Streptokokken von 69—71
hämolyl. Staphylokokken von 95—96

Fall 15. Vereiterte Amputationswunde.
Nach längerer Behandlung kein Fieber mehr.
Freßzahlen:
Hämolyt. Streptokokken von 33—41
hämolyt. Staphylokokken von 85—100

Fall 21. Abszeß der rechten Leistendrüsen.
Nach Fieberzacke von 39,5° am ersten Untersuchungstag keine Temperaturen mehr.
Freßzahlen:
Hämolyt. Streptokokken von 12—27
hämolyt. Staphylokokken von 85—97

Bei diesen Mischinfektionen würde die Frage interessieren, welcher der beiden Kokkenstämme die Führung bei der Infektion hat.

Den Freßzahlen gemäß sollten in allen Fällen Streptokokken dominant sein. Klinisch besteht jedoch gar kein Anhalt dafür, es können in sämtlichen Fällen auch die Staphylokokken die führende Rolle spielen, denn daß bei Staphylokokken hohe Virulenz und hohe Freßzahlen parallel gehen können, zeigt der schon angeführte Fall 20. Es zeigt sich, wie schon oben bemerkt, daß von Freßzahlen für verschiedene Bakterien auf ihre relative Virulenz nicht geschlossen werden kann, da es scheinbar eine spezifische Affinität der verschiedenen Bakterienstämme zu den Leukocyten gibt. Bekannt ist z. B. die hohe Affinität der Meningo- und Gonokokken hierzu, für die ja die intracelluläre Lagerung in den Leukocyten charakteristisch ist. Dies sagt nichts über die Virulenz derselben aus, da ja die Phagocytose nur eine Phase in dem Kampf der Phagocyten und der Bakterien gegeneinander darstellt, die den Ausgang desselben durchaus offen läßt.

Bei Betrachtung jedes Erregers für sich ergeben die Freßzahlen der Staphylokokken zu geringe Differenzen, um mit den abweichenden klinischen Bildern verglichen werden zu können; so sind z. B. die Freßzahlen für die sicher erheblich virulenten Staphylokokken von Fall 10 höher als die der harmlosen Fälle 4 und 11.

Bei den Freßzahlen der Streptokokken läßt sich eher ein Zusammenhang mit dem klinischen Bild feststellen. Fall 10 hat hier niederere als Fall 4 und 11, jedoch hat Fall 21, der klinisch weit harmloser als Fall 10 ist, die niedrigsten Freßzahlen.

Gerade die Fälle von Mischinfektionen drängen zu einem Vergleich der Freßzahlen der beiden verschiedenen Erreger miteinander.

Hierbei, aber auch bei Betrachtung aller anderen Tabellen fällt auf, daß die Freßzahlen bei Staphylokokken durchweg erheblich höhere sind wie bei Streptokokken. Dies ist eine Bestätigung des schon von vielen Autoren beschriebenen und klinisch wichtigen Staphylokokken und Streptokokkengegensatzes. Er ist in dem kurzen Abriß der allgemeinen Chirurgie von Orator treffend herausgestellt, wo es in dem Kapitel über Abszeß und Phlegmone heißt: „Auch experimentell läßt sich beobachten, daß diese Traubenkokken in der Regel die Leukocyten heranzulocken pflegen, und in dieser Eigen-

heit der Leukocytoseförderung kann eine Erklärung relativer Gutartigkeit dieser Infektionen, die aus demselben Grunde zu eitriger Abkapselung neigen, gesehen werden. Dem entspricht das pathologische Bild eines Abszesses.

An umschriebener Stelle sich ansiedelnde Bakterien führen zur toxischen und bakteriellen Schädigung der betroffenen Gewebeabschnitte. Als Ausdruck einer günstigen Reaktions- bzw. Immunitätslage des Körpers kommt es zu einer klaren Schichtenbildung rund um den Ansiedelungspunkt der pathogenen Keime:

Erst die Nekrose, dann nekrobiotische Randzone mit leukocytärem Gürtel, histiocytärer Schutzwall mit allen Einzelheiten des Granulationsgewebes und fließender Übergang zum entzündlich gereizten und weiterhin normalen Gewebe. Im Gegensatz hierzu wirken die Kettenkokken Leukocyten abstoßend und führen folgerichtig bei schweren Formen zur Leukopenie. Bei der Phlegmone kommt es im Gegensatz zum eben beschriebenen Abszeß zu keiner örtlichen Abgrenzung. Es bildet sich nirgends der Granulationswall einer pyogenen Membran. Die Eiterbildung ergibt keine so typisch sahneartige Flüssigkeit; meist ist es ein trübseröser Erguß, oft nur ödemartige Flüssigkeitsansammlung. Dagegen ist die Phlegmone gekennzeichnet durch ihr nirgends haltmachendes Fortschreiten. In allen Bindegewebsspalten, vor allem des Subkutangewebes, aber ebenso auch der tiefen Spalten zwischen den Muskeln dringt sie vorwärts."

Daß die Leukocyten sich staphylophil und streptophob verhalten, ging aus meinen Versuchen ganz eindeutig hervor.

F. Brauchbarkeit des Phagocytoseversuchs.

Wie schon in meinen Versuchsergebnissen dargelegt, konnte ich bei meinen Fällen keine Parallelität zwischen Freßzahlen und klinischem Verlauf feststellen. Leider standen mir während der Zeit meiner Arbeit keine besonders prägnanten Fälle zur Verfügung.

Abschließend möchte ich nochmals diejenigen Fälle herausgreifen und einander gegenüberstellen, welche in mir die Hauptbedenken gegen die klinische Verwendbarkeit des Phagocytoseversuchs hervorgerufen haben. Es sind sämtlich Staphylokokkeninfektionen. Die Zuverlässigkeit der Versuche ist groß, da wegen der idealen Emulgierbarkeit der Staphylokokken technische Fehler gut ausgeschlossen werden können.

Fall P. Nr. 9) war eine hartnäckige, chronische Osteomyelitis, z. Zt. klinisch in keinem besonders guten Zustand. Die niedrigste Freßzahl bei ihm betrug 86, die höchste 98.

S. (Nr. 20) hatte eine Phlegmone am linken Fuß, die in die Tiefe drang und nachher, indem sie auch die Fußknochen angriff, zu einer Osteomyelitis wurde. Die niedrigste Freßzahl betrug hier 89, die höchste 100.

II. Die Patientin B. (Fall Nr. 12) hatte eine ganz leichte Mastitis, die sehr schnell abheilte. Hier betrug die niedrigste Freßzahl 75, die höchste 84.

Patient T (Fall Nr. 13) litt an einer Bursitis präpatellaris, bei ihm betrug die niedrigste Virulenzzahl 87, die höchste 95. Die Virulenzzahlen weichen trotz des verschiedenen klinischen Verlaufes keineswegs erheblich voneinander ab. Freilich glaube ich auch, daß in extremen Fällen, z. B. einer schweren Sepsis einerseits und einem kleinen Furunkel andererseits, ein starker Unterschied in der Freßzahl bestehen wird, denn wenn eine Sepsis vorliegt, so ist sicher der gesamte Abwehrapparat im Körper in seiner Funktion sehr herabgesetzt und folglich auch die Abwehrkraft der polymorphkernigen Leukocyten. Es ist aber bestimmt ein Fehler, letztere, die nur e i n e n Faktor in dem ganzen Abwehrsystem bilden, als Maßstab eben für das Ganze zu nehmen. Wenn man auch sagt, die Opsonine seien die eigentliche Ursache für eine hohe bzw. niedrige Freßzahl, so setzt man doch eine Proportionalität zwischen der Leukophagocytose und der gesamten menschlichen Immunitätslage voraus. Theoretisch ist dies schon auf Grund der Erkenntnisse der verwickelten Verhältnisse der Immunbiologie, diesem Widerspiel der verschiedenen Ergien, wenig wahrscheinlich. Auf Grund der Ergebnisse meiner Versuche glaube ich jedenfalls nicht an diese Proportionalität.

An dieser Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. Selter für die Überlassung des Themas und für die Übernahme des Referates herzlich danken, ebenso Herrn Prof. Dr. Grütz für das Korreferat. Besonderen Dank spreche ich auch Herrn Dr. med. Nagel aus für seine freundliche Anregung sowie für die erste Durchsicht der Arbeit.

Literaturangaben.

1. Metschnikoff:
Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Kolle Wassermann. Band 2, S. 655 ff., Jena 1913.

2. Leishman:
Die Methodik des Phagocytoseversuches. Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Kolle Wassermann. Band II/1, S. 420 ff.

3. Wright, A. E.:
Auszüge aus dem Handbook of the technique of the teat and capillary glasstube etc., London 1912, im Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Kolle Wassermann. Bd. III, S. 146 ff.

4. Deutsche Medizinische Wochenschrift 1908, Nr. 19, 812:
(Enthält speziell Angaben über die im Wrightschen Laboratorium gebräuchliche Technik.)

5. Bürgers:
Zentralblatt für Gynäkologie 34, 1, 1910, S. 602 ff.

6. Waldapfel:
a) Monatsschrift für Ohrenheilkunde 1923, S. 629 ff.
b) Zeitschrift für Hals-Nasen-Ohrenheilkunde, Verhandl. 1923, S. 6 ff.

7. Bürgers und Wolffheim:
Zeitschrift für Laryngologie und Rhinologie 20, 1931, S. 488 ff.

LEBENSLAUF.

Geboren bin ich, Willibald Schmidt, als Sohn des Oberstudienrats Dr. Otto Schmidt, am 20. Oktober 1913 zu Bonn. Nach Besuch des Reformrealgymnasiums bestand ich Ostern 1932 die Reifeprüfung. Hierauf studierte ich Medizin in Bonn und Danzig. Ende Januar 1938 beendigte ich in Bonn meine Staatsprüfung. Das praktische Jahr leistete ich ab an der Bonner Medizinischen Klinik, dem Hygienischen Institut und dem Marienkrankenhaus auf dem Venusberg.